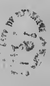
TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DU

DOCTEUR JEAN ENSELME



LYON

ÉDITIONS DU SERVICE PHOTOGRAPHIQUE
DE L'UNIVERSITÉ

—

1930

TITRES ET TRAVAUX SCIENTIFIQUES

TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DU

DOCTEUR JEAN ENSELME

LYON
ÉDITIONS DU SERVICE PHOTOGRAPHIQUE
DE L'UNIVERSITÉ

—

1930



ENSELME JEAN

né à Lyon, le 7 janvier 1895

TITRES MILITAIRES

mobilisé comme brancardier, puis médecin auxiliaire, aux armées (front français 3 ans, armée d'Orient 2 ans)- Citation à l'ordre du Régiment 1916.

TITRES UNIVERSITAIRES

Docteur en Médecine, 1924.
Licencié ès Sciences, 1925.
Docteur ès Sciences, 1930.

TITRES HOSPITALIERS

Ancien Externe des Hôpitaux de Lyon (Concours du 16 novembre 1920).
Ancien Interne provisoire des Hôpitaux de Lyon (Concours du 2 octobre 1922.

FONCTIONS UNIVERSITAIRES

Chef de travaux de chimie biologique et medicale depuis le I nov[illegible]

Chargé des fonctions d'agregé de chimie avec enseignement de la chimie biologique et cours complementaire de chimie analytique appliquée a l'hydrologie depuis le I novembre I93I

ÉNUMÉRATION CHRONOLOGIQUE DES TRAVAUX

1923-1924

RECHERCHES AU SUJET DE L'ACTION EXERCEE PAR L'INSULINE SUR DIFFERENTS HYDRATES DE CARBONE.
(*Thèse de Médecine*, Lyon, **1923-1924**).

1926

SUR LA TENEUR EN CHLORURE DES PRODUITS DE L'EXPECTORATION. (En coll. avec L. Hugounenq).
(*Presse Médicale*, n° **72**, du 8 septembre **1926**).

1927

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES FORMES ORGANIQUES DU PHOSPHORE DANS LES NÉOPLASMES. (En coll. avec Mme Enselme.)
(*Bull. Soc. Chimie biol.*, T. IX, n° **9**, novembre **1927**).

MÉTABOLISME DU TISSU NÉOPLASIQUE IRRADIÉ. (En coll. avec Mme Enselme).
(*Lyon Médical*, **12** juin **1927**, n° **24**).

1928

VARIATIONS DES DIVERSES FORMES DU PHOSPHORE SOUS L'INFLUENCE DU DIABÈTE ET DES PRINCIPES HYPOGLYCEMIANTS. (En coll. avec G. Florence et Tsen Zola).
Bull. Soc. Ch. Biol., t. X, n° 5, mai 1928).

1929

RECHERCHES SUR LE MÉTABOLISME BASAL DANS LES AFFECTIONS THYROIDIENNES. (En coll. avec G. Florence et J. Creyssel).
(*Journ. de Méd. de Lyon*, 5 mars 1929).

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'HYDROLYSE ACIDE DES PROTEIDES.
(*Comptes rendus, Académie des Sciences*, séance du 6 janvier 1930).

SUR LA MARCHE DE L'HYDROLYSE ACIDE DE LA FIBROINE DE LA SOIE. (En coll. avec M. Morel).
(*Bull. Soc. Ch. de France*, juillet 1929, section de Lyon, p. 581, n° 7).

SUR QUELQUES PARTICULARITÉS DE LA GLYCYL-GLYCINE. (En coll. avec M. Morel).
(*Bull. Soc. Ch. de France*, juillet 1929, n° 7, section de Lyon, p. 582).

SUR LA MARCHE DE L'HYDROLYSE DE LA FIBROINE DE LA SOIE. (En coll. avec M. Morel).

(*Bull. Soc. Ch. de France*, 1er février 1930, n° 3, section de Lyon).

CONTRIBUTION A L'HYDROLYSE DES PROTIDES.

(*Bull. Soc. Chim. Biol.* Mars 1930).

1930

CONTRIBUTION CHIMIQUE A L'ETUDE DE LA MOLECULE PROTIDIQUE.

(*Thèse de doctorat ès-sciences*, Lyon 1930).

LES PROBLEMES DE LA BIOCHIMIE MODERNE. (En collab. avec G. Florence.) Sous presse. Doin et Cie, éditeurs.

I93I

=Pouvoir tampon et dosage des polypeptides . Bull. Soc. Chim. 2.4 , I93[illegible] p. 723 - 725 .

= Organisation des travaux pratiques . Pour les etudiants devant participe[illegible] a ces exercices j'ai ecrit un ouvrage (non en vente dans le commerce) Travaux pratiques de chimie medicale . Roche , Lyon , I93I .

I932

= Essai de classification biochimique des hypertensions (en coll. avec le prof. Cordier) Ann. Med. , XXXI , Avril I932 , p 293-43I .

=Contribution à l'étude des variations , en fonction du pH des spectres Ultra violets de quelques composés heterocycliques hexavalents (en coll. avec G Florence et M Pozzi) Bull. Soc. Chim. biol. XIV , nov. I932 , p I329-I342.

I933

= Contribution à l'etude du quotient respiratoire chez les basedowiens et chez les diabetiques . Journ med. Lyon , 3I4 , 5 fev. I933 , p. 8I-88

Les applications à la chimie biologique des spectres d'absorption dans l'ultra violet (en coll. avec G Florence) Lyon pharmaceutique fev I933 , p 225-24I.

= Contribution à l'étude des proteides vegetaux . I memoire - De la preparation d'une édestine purifiée . Bull. Soc. Chim. biol. , XV , Janv. I933 , p I35 - I46 .

ETUDE CONCERNANT LES PROTIDES

Depuis trois ans, nous nous sommes efforcé de suivre l'hydrolyse des protides, et nous avons poursuivi de très près l'analyse de ce phénomène, espérant en tirer quelques conclusions intéressantes au sujet de leur constitution.

Nous avons exposé les résultats de nos recherches en diverses publications :

1° Sur la marche de l'hydrolyse acide de la fibroïne de la soie (en collaboration avec M. Morel). *Bull. Soc. Chim. de France*, juillet **1929**, Section de Lyon, page **581**, n° **7**.

2° Sur quelques particularités de la glycyl-glycine (en collaboration avec M. Morel). *Bull. Soc. Chim. de France*, **1929**, juillet **1929**. n° **7**, section de Lyon, p. **582**.

3° Contribution à l'hydrolyse acide des protéines. *Comptes rendus à l'Académie des Sciences* (présentée par M. Desgrez). Séance du **6** janvier **1930**.

4° Sur la marche de l'hydrolyse de la fibroïne de la soie (en collaboration avec M. Morel). *Bull. Soc. Chim. de France*, **1**er février **1930**, n° **3**, section de Lyon.

5° Contribution à l'étude de l'hydrolyse des protides. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, mars **1930**.

Ces publications ont d'ailleurs été reprises dans notre thèse de doctorat ès-sciences, dont nous donnons ici un résumé :

CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DE LA MOLÉCULE PROTIDIQUE

Thèse de Doctorat ès-sciences
(Lyon, Avril 1930)

CHAPITRE I

Nous avons poursuivi l'étude de la cinétique de l'hydrolyse des protéines. Pour cela, nous nous sommes efforcé de préparer des protides aussi purs que possible. Le plus grand nombre fut obtenu par nous, selon les techniques les plus récentes, dont on trouvera le détail dans notre thèse de sciences. Toutes les protéines utilisées furent séchées dans le vide à la température du laboratoire puis dégraissées au moyen de l'appareil de Kumagawa Suto.

Nous avons employé des acidités croissantes et assez rapprochées que nous indiquerons dans nos protocoles d'expérience. Par contre, nous n'avons utilisé que le seul acide chlorhydrique qui, possédant un seul hydrogène acide, permet des calculs plus faciles.

La dilution de nos solutions fut toujours la même. Le liquide d'hydrolyse était toujours égal à vingt fois la quantité d'albumine utilisée.

Nous avons employé le plus souvent 10 gr. de protéine et 200 gr. de liquide d'hydrolyse.

Des prélèvements étaient opérés à des intervalles de temps plus ou moins espacés, suivant l'allure plus ou moins rapide du phénomène étudié.

Les hydrolyses étaient pratiquées dans de grands ballons de deux litres, munis d'un bon réfrigérant ascendant du type Vigreux. Le ballon était pesé avant chaque temps de chauffe, il l'était à nouveau après l'ébullition de quelques heures qui séparaient deux dosages. Les pertes subies malgré le réfrigérant étaient alors compensées par addition de la quantité nécessaire d'eau distillée, le plus souvent aucune perte n'était trouvée. Les prises nécessaires aux dosages étaient aussi minimes que possible (généralement 3 à 4 cm^3), elles étaient opérées sur un milieu parfaitement homogénéisé par agitation. La quantité globale de liquide était diminuée de quelques centimètres cubes, mais le pourcentage en azote dans le liquide restait le même pendant toute la durée de l'hydrolyse.

Nos dosages étaient opérés par deux méthodes : la méthode de Sörensen et la méthode de Van Slyke.

On trouvera dans notre thèse les résultats de ces dosages. Nous les avons traduits ici par des courbes, dont les ordonnées représentent l'azote libéré et les abscisses les temps d'hydrolyse.

A) Examinons d'abord les graphiques qui représentent le phénomène d'hydrolyse des protéines. Plusieurs points méritent d'attirer notre attention.

1° Les courbes sont d'une parfaite régularité. Nous avons, en les traçant, le plus souvent réuni simplement les points donnés par l'expérience. Parfois, un léger écart correspondant aux erreurs d'expérience nous obligeait à passer entre deux points, mais ces divergences sont insignifiantes et relèvent d'erreurs de dosages inévitables.

Nous aurons l'occasion de critiquer le dosage Sörensen pratiqué selon la technique que nous avons adoptée, technique comportant une double neutralisation à la phénol-phtaléine, l'une avant, l'autre après l'addition de la solution formolée.

Nous montrerons que ce dosage, s'il rend parfaitement compte de l'azote des amino-acides, laisse échapper une partie de l'azote des polypeptides. Nos courbes traduisent donc surtout la cinétique de la libération des acides aminés.

2° Cette libération se réalise suivant un type presque toujours semblable à lui-même, se reproduisant de manière identique, avec des variations quantitatives conditionnées par la quantité d'agent hydrolysant utilisée.

3° Cependant, ces courbes doivent être réparties en deux catégories bien distinctes :

La plupart après une certaine évolution s'inclinent et deviennent parallèles à la ligne des abscisses. Ce plateau traduit l'établissement d'un équilibre. Loin d'aboutir à une transformation totale de la protéine, l'hydrolyse s'atténue, puis s'arrête après un certain temps d'évolution.

Si l'on compare les quantités d'azote dégagées pour les différents équilibres d'une même protéine, on voit que ces quantités augmentent avec l'acidité du milieu d'hydrolyse. Cet accroissement est extrêmement régulier comme le mettent en évidence les courbes de la figure **11**. Ces faits sont nets pour la clupéovine, l'ovalbumine, la caséine, la gélatine et même l'édestine.

Au contraire, la fibroïne est entièrement différente, même en présence de faibles doses d'agent hydrolysant, elle tend vers la libération totale de son azote aminé, sous la forme formol-titrable. C'est ainsi que, pour une acidité de **0,374 %**, la plus basse que nous ayons réalisée, alors que les courbes des autres protéines s'inclinent rapide-

ment pour aboutir à des plateaux, la courbe de la fibroïne de la soie monte en une ligne qui ne s'infléchit pas et réalise une droite. Et cette disposition se retrouve pour toutes les acidités. La fibroïne tend avec le plus faible catalyseur à libérer la quantité totale de son azote aminé.

Elle s'oppose en cela profondément aux autres albumines.

Ce fait comporte un intérêt pratique. On sait depuis longtemps déjà que les produits tinctoriaux qui contiennent des chlorures sont capables de réaliser une hydrolyse de la soie qui peut être poussée très loin. Ils causent parfois à l'industrie de la soie naturelle de graves préjudices. On a montré à la suite d'un certain nombre d'accidents de cet ordre, que les chlorures sont en présence de certaines albumines (soie-gélatine) partiellement hydrolysés et produisent de faibles doses d'acide chlorhydrique. Cet acide si minime que puisse être la quantité qui en sera produite, réalisera les conditions de nos expériences et agira comme un catalyseur capable de libérer la totalité de l'azote aminé de la fibroïne de la soie.

4° Enfin nous remarquons que, très souvent, les albumines que nous avons individualisées sous le nom d'albumines de nutrition et qui sont l'ovalbumine, la clupéovine et la caséine, possèdent des courbes qui se confondent.

Elles forment un ensemble qui s'hydrolyse difficilement si on les oppose au groupe formé par la gélatine, l'édestine ou la fibroïne.

Ces albumines présentent des courbes très rapidement ascendantes qui semblent s'hydrolyser plus facilement par les acides.

B) *L'étude mathématique* des résultats obtenus est moins fructueuse : 1° Nous avons essayé d'appliquer un certain nombre de constantes théoriques. Aucune ne se vérifie pour les fortes acidités, qui échappent à toute constante physique.

Cependant, les faibles acidités semblent plus facilement s'adapter à une constante définie.

La fibroïne vérifie parfois, dans des limites de temps assez étroites

d'ailleurs, la constante de premier ordre. On trouvera des exemples dans notre étude. L'évolution de l'hydrolyse de la fibroïne, sous l'action d'une acidité de 2,992 calculée en HCl est particulièrement typique.

2° Les autres protéines ne répondent à aucune des constantes que nous avons calculées (la constante de premier ordre avec réversibilité ne s'applique pas). Elles semblent cependant dans l'hydrolyse à faible acidité s'adapter assez bien à la formule : $K = \frac{x}{\sqrt{t}}$

Les résultats fournis par la méthode de Van Slyke apportent des renseignements comparables à ceux donnés par la méthode de Sörensen.

CHAPITRE II

ETUDE

DE LA GLYCYL-GLYCINE, DE LA CYCLO-GLYCYL-GLYCINE ET DE LA DIGLYCYL-GLYCINE

Si l'on calcule la quantité d'azote aminé de la glycyl-glycine, on trouve le taux de 10,6 %.

Cependant, si l'on prend une quantité de ce corps et que l'on dose l'azote par la technique classique de Van Slyke, on trouve un chiffre trop élevé (13,08 %), si l'on pratique la titration des mêmes groupements, selon la technique de Ronchèse (neutralisation jusqu'au rose de la phénol-phtaléine, addition de formol. retour au rose de la phénol-phtaléine) le chiffre trouvé est beaucoup trop faible (6,44 %).

Un écart relativement considérable s'établit donc entre ces deux dosages.

Nous avons retrouvé cet écart sur un tripeptide, la diglycyl-glycine, obtenu selon la technique de Fischer. Il constitue donc, semble-t-il, un caractère des polypeptides. Nous ne l'avons retrouvé ni sur les protéides, ni sur les amino-acides. Nous avons donc pensé qu'il pouvait constituer au cours de l'hydrolyse des protides un moyen de déceler la libération des peptides, puis leur division en amino-acides.

1° Nous nous sommes d'abord efforcé d'expliquer la déficience de la formol-titration pratiquée avec deux neutralisations au rose de la phénol-phtaléine (avant et après addition de formol).

Si l'on examine la réaction d'une solution de glycyl-glycine, on la trouve légèrement acide au tournesol, nettement acide à la phénol-phtaléine. Ce caractère acide ne varie pas après plusieurs redissolutions du corps dans l'eau bouillante et reprécipitations par l'alcool. Il semble donc inhérent à une constitution spéciale de la molécule.

Nous avons recherché le P_H d'une solution N/10 de glycyl-glycine à la température du laboratoire et au moyen d'un électromètre à électrode à la quinhydrone. Il est de 5,4.

Ce fait avait été entrevu par Henriquès et Sörensen, dont voici le protocole d'expérience :

20 cc. d'une solution n/20 de glycyl-glycine rougissent l'azolithmine, l'addition de V gouttes de soude N/5 la rendent neutre.

Il faut encore ajouter 2 cc. 25 de soude N/5 pour atteindre le rose tendre avec la phénol-phtaléine.

Nous avons retrouvé cette acidité sur tous les échantillons que nous avons étudiés, nous avions obtenu le plus grand nombre de ces échantillons au moyen de la technique de E. Fischer. Un autre avait été préparé il y a vingt ans par M. le Professeur Hugounenq, nous en avions enfin réalisé un certain nombre par la méthode de Maillard. On voit donc que, quelle que soit la technique employée, pour obtenir la glycyl-glycine, on aboutit à un corps légèrement acide de $P_H = 5,4$.

La molécule de glycyl-glycine comporte donc un hydrogène mobile et nous la représentons d'abord par le schéma :

$$R - H$$

Réalisons à présent l'expérience suivante :

1° Prenons une certaine quantité d'une solution à 1 % de glycyl-glycine, ajoutons quelques gouttes de rouge de méthyle, nous obtenons

un virage de ce réactif avec une goutte de soude N/20 : $P_H = 5$. ajoutons 20 cc. d'une solution dédoublée de formol du commerce amenée au point de virage du rouge de méthyle par une addition de soude :

P = 5 nous avons une libération des groupes COOH, par formation du composé :

$$HOOC - CH^2 - NH - CO - CH^2 - N = CH^2$$

nous titrons en retour et nous trouvons :

N libéré = 10,64 % Théorie : 10,6 %

En somme, nous pouvons dire que, si nous réalisons une formoltitration en négligeant l'acidité du produit, c'est-à-dire, en employant un réactif qui vire aux environs du P_H de la glycyl-glycine nous libérons une quantité d'ions H qui se montre équivalente à la quantité de groupement NH^2 captés par le formol. C'est ce qu'avaient vu Henriquès et Sörensen qui donnent le conseil suivant : « Wenn es sich um reine Lösungen von ammonium und Aminoverbindungen handelt, kann es somit keinem Zweifel unterliegen das Lackmus bei der neutralisation dagegen bei der eigentlichen formoltitrierung Phenolphtalein (bis zu stark roter Farbe) zu verwenden ist ».

Nous pouvons donc écrire que au P_H 5,4, la quantité d'ions $\overset{+}{H}$ des groupes COOH est exactement neutralisée par une quantité équivalente de groupes NH^2 et l'on peut figurer ainsi l'ensemble des faits que nous venons d'observer :

$$\begin{matrix} COOH \searrow \\ \quad\quad R - H \\ NH^2 \nearrow \end{matrix}$$

par un schéma qui n'a d'autre prétention que de représenter l'égalité des groupes COOH et NH^2 et la présence d'un hydrogène mobile conférant à la molécule une certaine acidité.

Voyons à présent quelles sont les relations de cet hydrogène

mobile avec le groupement NH^2. Pour cela, amenons la solution de glycyl-glycine au rose tendre de la phénol-phtaléine, c'est-à-dire portons-là de $P_H = 5,4$ à $P_H = 8,3$ par addition de x_1 centimètres cubes de soude N/20.

Si l'hydrogène mobile est indépendant de l'existence du groupe aminé, l'addition de formol qui fait disparaître ce groupement n'agira pas sur l'hydrogène mobile et libérera seulement les groupes COOH qui exigeront pour être neutralisés à leur tour une quantité x_2 de soude N/20 égale à la quantité x de soude nécessaire pour neutraliser la totalité des groupes carboxyles, et l'on aura : $x_2 = x$. Au contraire, si l'existence de l'hydrogène mobile est liée à l'existence du groupe NH^2, toute addition de formol faisant disparaître les groupes NH^2 (par transformation en un nouveau groupe : $— N = CH^2$) fera en même temps disparaître l'hydrogène mobile. Les ions $\overset{+}{Na}$ qui avaient servi à le neutraliser seront libérés et serviront à neutraliser une part des groupes COOH libérés par le formol. Au total, la quantité de soude que l'on devra ajouter pour la formol-titration sera de x (quantité théorique) moins x_1, quantité ajoutée avant l'addition de formol pour porter la glycyl-glycine de $P_H = 5,4$ à $P_H = 8,3$ et l'on aura : $x^2 = x - x_1$.

C'est cette seconde formule que vérifie l'expérience qui donne :

a) Titration au rouge de méthyle :

10,64 d'azote pour 100 de glycyl-glycine

b) Titration à la phénol-phtaléine :

Quantité de soude nécessaire pour porter au rose de la phénol-phtaléine (PH : 8,3) calculé en azote pour 100 gr. de glycyl-glycine	4,2
Quantité de soude nécessaire pour retourner à la même teinte après addition de formol, calculé comme précédemment ..	6,44
Total	10,64

Nous avons retrouvé ces chiffres constamment sur des échantillons de provenances diverses. Ils semblent peu influencés par les modifications de température de la solution.

Nous résumons donc ces faits en disant que la glycyl-glycine présente en solution un P_H égal à 5,4, ce qui laisse supposer qu'elle pos sède un hydrogène mobile. Que d'autre part, l'existence de cet hydrogène mobile semble liée à l'existence du groupement NH^2, disparaissant lorsque celui-ci est bloqué par une addition de formol.

Ces faits étant acquis, essayons de les interpréter par un schéma moléculaire : nous voyons trois types d'explication :

a) La formule de la glycyl-glycine peut être écrite sous une forme bétäinique, analogue à celle que Willstätter a proposée pour le glycocolle et qui serait :

```
CH² — NH — CO — CH²
|               |
CO ———————— O — NH²
                |
                H
                +
```

Cette formule présente en effet un hydrogène mobile, dont l'existence est liée à l'intégrité du groupe NH^2.

Il y a là, une explication très satisfaisante pour la glycyl-glycine qui fournit ainsi un hétérocycle heptagonal. Mais elle s'adapte mal aux polypeptides plus élevés.

b) La formule de la glycyl-glycine comporte un groupe : CO — NH qui constitue ce que Victor Meyer en 1887 désignait sous le nom de radicaux organiques « à caractère négatif » et que Vorländer a proposé d'appeler, en **1901**, plus justement « groupe réactif ». L'activité de ce groupe étant sans doute due à sa double liaison : C = O. Des groupes semblables se retrouvent par exemple dans l'acide urique.

Cependant, pour accepter cette hypothèse, il nous faut admettre

que l'action de ces groupes disparaît lorsque se transforme la fonction amine.

c) Une explication physico-chimique échappe en partie aux critiques que nous avons adressées aux précédentes hypothèses. Nous pouvons supposer en effet que la glycyl-glycine est en solution aqueuse partiellement dissociée. La portion dissociée pouvant être représentée par la formule :

$$\overset{+}{H} - \underset{\underset{\overline{OH}}{|}}{\overset{\overset{H^2}{|}}{N}} - CH^2 - CO - NH - CH^2 - \underset{\underset{\overset{+}{H}}{|}}{COO}$$

Représentons par Ka le coefficient de dissociation de l'ion $\overline{OH}$ par K_b le coefficient de dissociation de l'ion $\overset{+}{H}$, nous comprenons que si l'on a **$K_b > Ka$ la solution est acide. Cependant, toute addition** de soude destinée à la ramener à la neutralité substituera un ion $\overset{+}{Na}$ à l'hydrogène mobile.

Une telle substitution diminuera d'autant la titration postformolique.

Or, la quantité de soude qui doit être ajoutée est d'autant plus grande que le pouvoir tampon du corps en solution est lui-même plus grand. Le fait qu'il faut pour ramener une solution de glycocolle à la neutralité beaucoup moins de soude que pour ramener à la neutralité une solution de glycyl-glycine, révèle simplement que le pouvoir tampon du glycocolle est inférieur à celui de la glycyl-glycine.

En résumé, les faits montrent que la glycyl-glycine comporte un hydrogène actif, amenant ses solutions à un $P_H = 5,4$. L'existence de cet hydrogène semble liée à l'intégrité du groupe aminogène. Nous voyons imparfaitement encore, le mécanisme intime de la production de

cet hydrogène mobile. Nous pensons qu'il traduit l'existence d'un équilibre entre diverses formes.

Voyons les conséquences de ce fait :

1° Réalisons l'expérience suivante :

Prenons une quantité connue de glycyl-glycine en solution dans l'eau, ajoutons-lui d'abord quelques gouttes d'une solution N/10 de nitrate d'argent, puis goutte à goutte, une solution titrée de soude N/20 jusqu'à ce qu'un léger trouble se produise dans la solution. Nous sommes obligés d'ajouter x cc. de soude qui, transformés en azote, pour cent grammes de glycyl-glycine donnent : **11,4** (théorie pour l'azote aminé : 10.6).

Nous en concluons que la soude formée fut utilisée pour constituer un glycyl-glycinate de soude. C'est seulement lorsque tous les carboxyles de la glycyl-glycine furent épuisés que nous avons eu dans notre solution de la soude en liberté qui rapidement a donné un trouble d'oxyde d'argent.

Au moment où l'opération est terminée, une addition de phénolphtaléine donne une teinte rouge foncée : $P_H = 9,1$.

Ainsi de P_H 5,4 à P_H 9,1, la solution notée de peptide se comporte comme un acide et fixe des ions positifs.

Reprenons à présent les expériences classiques de Loeb sur les protéines :

Deux faits, mis en évidence par cet auteur, méritent d'attirer l'attention du chimiste.

a) Les protéines fixent des cations du côté alcalin de leur point iso-électrique, alors qu'elles fixent des anions du côté acide du point iso-électrique.

b) Le point iso-électrique est généralement dans une zone acide. C'est ainsi qu'il est de P_H : 4,7 pour la gélatine.

Si l'on se place au point de vue purement chimique, le P_H : **5,4** de

la glycyl-glycine se comporte comme un véritable point iso-électrique, puisque du côté acide de ce P_H la glycyl-glycine va fixer des cations et se comporter comme un acide.

2° Pour vérifier notre hypothèse, nous avons montré que :

a) L'hydrolyse de la glycyl-glycine pratiquée avec diverses acidités montre une chute constante de la différence entre les deux dosages Van Slyke et Sörensen (N.V.S. — N.S.).

Au fur et à mesure que se libère le glycocolle, l'écart entre les 2 dosages s'atténue.

b) L'hydrolyse de la cycloglycyl-glycine à diverses acidités montre au contraire deux temps dans les variations de la différence N.V.S. — N.S. Un temps d'ascension rapide pendant que se libère la glycyl-glycine, un temps de chute de la même différence au moment où se libèrent les amino-acides (Fig. 15). La persistance de la réaction d'Abderhalden pendant que se dessine la portion ascendante, sa disparition pendant la portion descendante peut servir de preuve à ce que nous avançons.

c) Une étude semblable réalisée sur une cyclo-glycyl-glycine énolisée au moyen de la technique de E. Abderhalden et E. Schwab nous a montré les mêmes phénomènes sans accuser aucune différence avec la forme cétonique.

d) Une hydrolyse de l'acétyl-glycyl-glycine anilide nous montre deux temps, l'un correspondant à la libération de la glycyl-glycine est ascendant, l'autre correspondant à sa transformation en glycocolle est descendant.

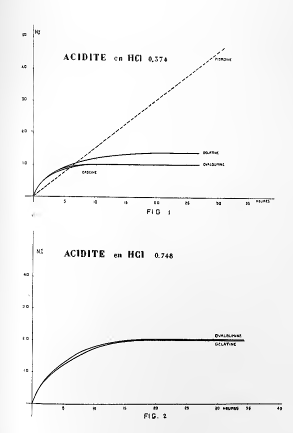

N%
ACIDITE en HCl 0,374
50
40
30
20
10
FIBROINE
GELATINE
OVALBUMINE
CASEINE
5
10
15
20
25
30
35
HEURES

FIG 1

N%
ACIDITE en HCl 0.748
40
30
20
10
OVALBUMINE
GELATINE
5
10
15
20
25
30 HEURES
35
40

FIG. 2

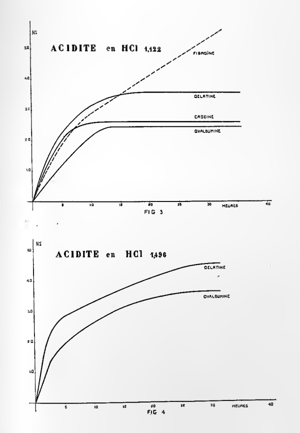
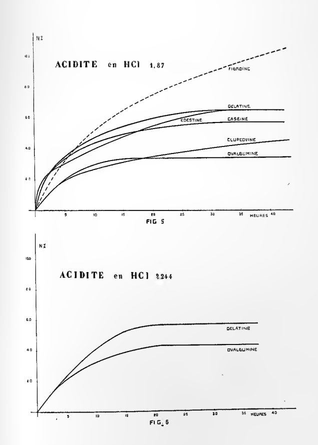

N%
ACIDITE en HCl 1,122
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
FIBROÏNE
GELATINE
CASEINE
OVALBUMINE
5
10
15
20
25
30
HEURES
40
N%
ACIDITE en HCl 1,496
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
GELATINE
OVALBUMINE
5
10
15
20
25
30
HEURES
40
FIG 3

FIG 4


N%
ACIDITE en HCl 1,87
FIBROINE
GELATINE
EDESTINE
CASEINE
CLUPEOVINE
OVALBUMINE
HEURES
FIG 5
N%
ACIDITE en HCl 2,244
GELATINE
OVALBUMINE
HEURES
FIG_6

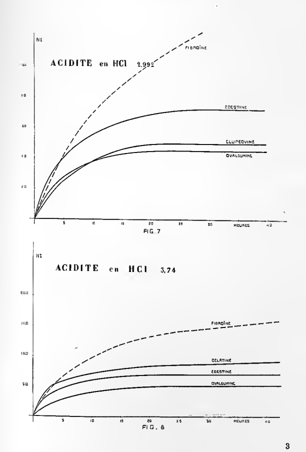
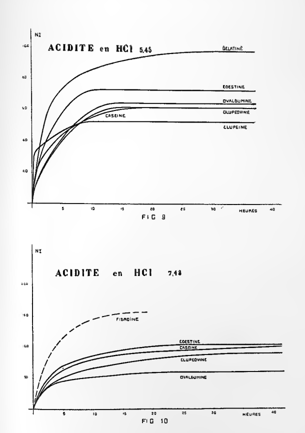
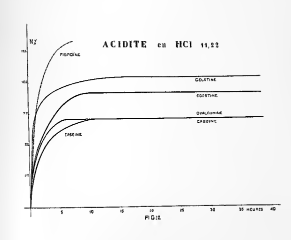

ACIDITE en HCl 2,992
FIBROÏNE
EDESTINE
CLUPEOVINE
OVALBUMINE
HEURES
ACIDITE en HCl 3,74
FIBROÏNE
GELATINE
EDESTINE
OVALBUMINE
HEURES

FIG. 7

FIG. 8

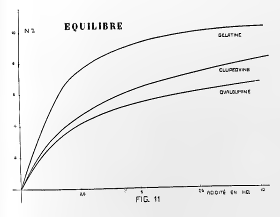

N%
ACIDITE en HCl 5,45
GELATINE
EDESTINE
OVALBUMINE
CLUPEOVINE
CASEINE
CLUPEINE
5
10
15
20
25
30
HEURES
40
FIG 9

N%
ACIDITE en HCl 7,48
FIBROINE
EDESTINE
CASEINE
CLUPEOVINE
OVALBUMINE
50
5
10
15
20
25
30
HEURES
40
FIG 10



N %
ACIDITE en HCl 11,22
FIBROÏNE
GELATINE
EDESTINE
OVALBUMINE
CASEINE
CASEINE
5
10
15
20
25
30
35 HEURES
40

FIG.12



EQUILIBRE
N %
10
8
6
4
GELATINE
CLUPEOVINE
OVALBUMINE
2,5
5
7,5
ACIDITÉ EN HCl
10

FIG. 11

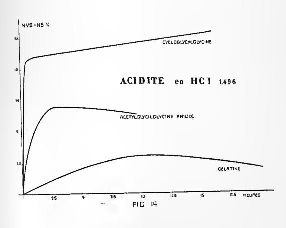

NVS-NS %
CYCLOGLYCYLGLYCINE
ACIDITE en HCl 1.496
ACETYLGLYCILGLYCINE ANILIDE
GELATINE
HEURES

FIG 14

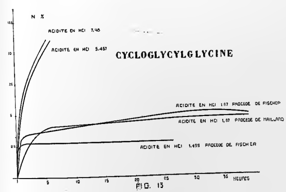
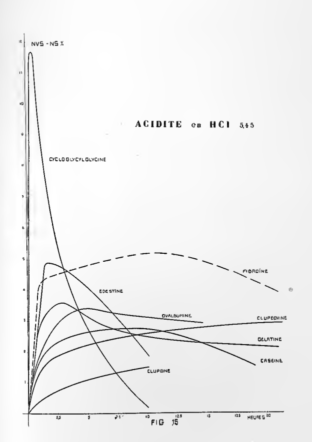
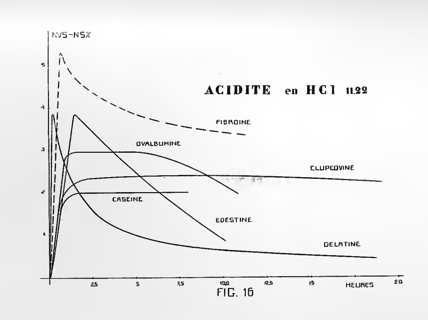

N %
ACIDITE EN HCl 7,48
ACIDITE EN HCl 5.457
CYCLOGLYCYLGLYCINE
ACIDITE EN HCl 1.87 PROCEDE DE FISCHER
ACIDITE EN HCl 1,87 PROCEDE DE MAILLARD
ACIDITE EN HCl 1,495 PROCEDE DE FISCHER
HEURES

FIG. 13



NVS - NS %
ACIDITE en HCl 5,45
CYCLOGLYCYLGLYCINE
FIBROINE
EDESTINE
OVALBUMINE
CLUPEOVINE
GELATINE
CASEINE
CLUPEINE
HEURES

FIG 15


ACIDITE en HCl 11.22
NVS-NS%
5
4
3
2
1
FIBROINE
OVALBUMINE
CLUPEOVINE
CASEINE
EDESTINE
GELATINE
2,5
5
7,5
10,0
12,5
15
HEURES
20
FIG. 16

CHAPITRE III

ETUDE DE LA DIFFERENCE AZOTE VAN SLYKE MOINS AZOTE FORMOL TITRABLE

L'étude de la glycyl-glycine, de la cyclo-glycyl-glycine et de la di-glycyl-glycine nous montre donc deux faits importants :

1° Ces peptides hydrolysés par des liquides d'acidité chlorhydrique croissante n'aboutissent point au moins pour les hydrolyses d'acidité faible à une libération totale de leurs amino-acides.

2° La glycyl-glycine présente un écart très important entre ses deux dosages Van Slyke et formolique. Cette différence s'atténue au fur et à mesure de la libération des amino-acides pendant son hydrolyse. Elle s'accuse au contraire en un premier temps, au cours de l'hydrolyse de la cyclo-glycyl-glycine pendant que se forme de la glycyl-glycine et disparaît au moment de la libération du glycocolle.

Nous appuyant sur ces faits, nous pensons pouvoir formuler une hypothèse qui nous conduira dans l'interprétation des courbes qui représentent l'évolution de la différence N Van Slyke moins N Sörensen au cours de l'hydrolyse des protéines.

Elle peut se formuler ainsi :

La différence obtenue entre les dosages Van Slyke et Sörensen (à double neutralisation par la phénol-phtaléine) augmente au fur et à me-

sure que se trouvent libérés les dipeptides. Elle s'atténue au contraire au moment où ceux-ci se rompent pour libérer les amino-acides.

On peut en déduire immédiatement que :

1° Toute variation selon l'axe des ordonnées correspond à une différence quantitative des polypeptides.

2° Toute variation selon l'axe des abscisses traduit une différence dans la rapidité de leur libération si la courbe est ascendante, ou de leur scission en amino-acides si la courbe est descendante.

Nous avons réalisé des hydrolyses de protides dans les conditions précédemment décrites. Au cours de l'opération, des prélèvement étaient pratiqués sur lesquels nous dosions l'azote aminé à la fois par titration au formol et par la technique de Van Slyke. Les différences étaient calculées. Elles ont fourni les ordonnées des courbes qui représentent ce phénomène (Fig. 14, 15, 16), alors que les temps d'hydrolyse ont été inscrits sur les lignes des abscisses.

Nous avons réalisé des hydrolyses à divers taux d'acidité :

(En HCl : **1,496** %. — **5,45** %. — **11,22** %. — **29,92** %)

Les graphiques obtenus montrent deux temps dans l'évolution des courbes.

L'un ascendant, l'autre descendant.

Le premier, pensons-nous, correspond à la libération des polypeptides, le second à leur scission en amino-acides.

En fonction de l'hypothèse, précédemment émise, essayons d'interpréter les variations de nos courbes et dans une revue générale des propriétés que nous avons notées, efforçons-nous aussi de grouper les protéines en une classification basée sur leur comportement au cours de l'hydrolyse acide.

I. — Nous pouvons isoler un premier groupe de protides formé par la fibroïne, la gélatine et l'édestine. Si nous examinons la figure 16, qui représente les variations de leur différence N.V.S. — N.S. pour une aci-

dité en HCl de 11,22 %, nous voyons leurs 3 courbes affecter une même allure. Rapidement ascendantes, elles dessinent une véritable arête aiguë.

Ces protides libèrent rapidement et, en quelque sorte, de façon massive leurs polypeptides. Ceux-ci apparaissent en grande abondance dans le liquide d'hydrolyse en moins d'une heure d'ébullition.

Très rapidement aussi, ils vont tendre à disparaître, la chute des courbes non moins brusque que leur ascension caractérise l'éclatement des peptides libérés.

Si nous nous reportons aux graphiques obtenus avec une acidité plus faible de 5,45 % (Fig. 15), la gélatine et l'édestine conservent la même allure générale, la fibroïne évolue d'abord rapidement, puis se montre plus traînante. En un mot, ces courbes reproduisent les précédentes, selon un rythme plus lent et selon un type atténué, ce qui s'explique parfaitement par la diminution de l'acidité.

Si nous comparons à présent cet aspect des courbes avec l'allure générale de celle de la cyclo-glycyl-glycine (fig. 15), nous notons une similitude absolue, même brusquerie dans l'élévation et dans la descente.

Nous nous sommes demandé si cette allure des courbes, cette faible résistance des groupes peptidiques n'était point due à l'abondance du glycocolle, celui-ci pouvant former des groupements peptidiques particulièrement fragiles.

Le taux élevé de la gélatine et de la fibroïne en glycocolle (environ 30 %) paraît d'abord justifier cette opinion.

Cependant, la faible teneur de l'édestine en glycocolle (3,8 %) ne permet pas de la maintenir.

En somme, nous pouvons seulement affirmer d'après l'étude de la différence N.V.S. — N.S., que les 3 protides, gélatine, fibroïne et édestine sont constitués par des groupements de polypeptides d'une particulière fragilité.

Convient-il donc de conclure à un type unique de constitution pour ces protides ?

Nous ne le pensons pas.

Chacun d'eux présente un aspect bien particulier.

1° La fibroïne doit être d'abord nettement individualisée. L'étude du développement des groupements NH^2 lui confère un aspect très spécial. Si l'on se reporte aux courbes de la figure 1, on voit : alors que les autres protides pour cette acidité très basse marquent tous un plateau presque immédiat, lequel indique un arrêt de l'hydrolyse, que seule la fibroïne monte en une droite qui tend vers une hydrolyse totale. Cette différence se retrouve sur toutes les courbes obtenues aux diverses acidités (voir les figures : 3, 5, 7, 8, 10, 12). Ainsi, la fibroïne se caractérise facilement par son hydrolyse acide. Elle prend d'emblée un aspect original. L'hydrolyse, même au moyen de catalyseur léger, la transforme toujours totalement en amino-acides.

Cette vulnérabilité très spéciale de la fibroïne est d'autant plus étrange à constater que l'on connaît sa résistance aux hydrolyses fermentaires. Elle souligne la différence profonde du mécanisme d'action des deux agents chimiques et biologiques.

Elle donne sans doute aussi la traduction cinétique d'une certaine particularité de constitution. La fibroïne est souvent considérée comme une albumine très simple, une albumine schématique et notre étude confirme cette opinion.

L'étude de ses amino-acides nous a montré une prédominance marquée des acides aminés à chaine linéaire simple ; glycocolle et alanine, dont l'azote représente **65** % de l'azote total de ce protide.

Faut-il chercher dans cette composition la raison de sa grande simplicité de constitution ? Peut-être aussi convient-il de l'attribuer au mode de groupement des amino-acides. Il n'est pas sans intérêt de rapprocher les faits que nous notons du résultat des études Roentgengraphiques de Brill. Cet auteur pense que le cristal de soie est constitué par des grou-

pements, dont le type semble formé par les « corps hauts moléculaires » de Bergmann. L'hydrolyse de ces corps livre des tétrapeptides, laissant ainsi supposer l'existence dans leurs molécules, non de cycles à deux amino-acides, mais de cycles à quatre amino-acides.

Un tel groupement doit, sans doute, conférer à l'hydrolyse de la fibroïne son allure particulière.

2° La gélatine présente des courbes de différence N.V.S. — N.S. en tous points comparables à celle de la fibroïne. Leur allure générale est absolument la même, et la même rapidité de libération des polypeptides les caractérisent.

Cependant, l'étude du développement des groupes aminés de cette albumine offre des plateaux qui la différencient nettement de la fibroïne. L'étude systématique des courbes de la cyclo-glycyl-glycine nous a montré ces mêmes plateaux. Nous pensons donc qu'une telle allure des graphiques témoigne d'une constitution cyclopeptidique du protide qui le présente. L'examen des amino-acides de cette albumine nous indique, comme dans le cas de la fibroïne, la prédominance nette des molécules en chaînes linéaires simples (glycocolle, valine, alanine, leucine) qui représentent 42 % de l'azote total.

3° L'édestine se caractérise par une libération un peu plus lente de ses polypeptides. Par contre, leur éclatement en amino-acides semble plus rapide. L'allure de ses courbes N.V.S. — N.S. donne avec une grande netteté l'aspect en arête que nous avons signalé précédemment.

Elle aussi présente des plateaux, mais encore que l'azote total de l'édestine soit à peu près égal à celui de la gélatine, ces plateaux sont toujours, pour une égale acidité, inférieurs à ceux de cette albumine. Peut-être convient-il de rapprocher ce fait de la plus grande résistance des groupes polypeptidiques de l'édestine.

Elle se présente donc, parmi les albumines du premier groupe que nous avons établi, comme la plus résistante à l'hydrolyse. Celle-ci libère toujours moins d'azote que pour les deux autres albumines. Les polypep-

tides sont isolés lentement, mais, par contre, éclatent peu après leur libération.

II. — Si nous abordons à présent le second groupe de protides nous trouvons réunies, d'après l'allure traînante de leurs courbes, l'ovalbumine, la clupéovine et la caséine.

Il s'agit de trois albumines qui, physiologiquement, répondent à une même nécessité: la nutrition du jeune. Or, les biochimistes ont déjà établi entre ces protides plus d'une analogie de constitution. M. le Professeur L. Hugounenq étudiant les amino-acides de la clupéovine remarque leur analogie avec ceux des deux autres protéines. Il note une quantité totale d'azote qui est sensiblement la même que pour l'ovalbumine et l'édestine.

Nous croyons apporter aujourd'hui, une preuve de plus en faveur de ce qu'avançait notre Maître. L'analogie que nous notons dans nos études repose sur deux constatations :

1° L'étude des courbes qui traduisent le développement des groupes aminés pendant l'hydrolyse montre une confusion presque constante des graphiques, même allure générale, hauteur le plus souvent semblable des plateaux.

2° L'étude de la différence N.V.S. — N.S. montre, elle aussi, de grandes ressemblances.

Pour ces 3 protides, la libération des peptides se fait lentement et progressivement. Les lignes de différences tendent à l'horizontalité ou descendent faiblement, marquant par là que, au fur et à mesure que se libèrent des amino-acides, de nouveaux peptides sont produits qui maintiennent constant l'écart de dosage.

Cette marche traînante est très nette sur la figure 16, elle apparaît encore sur la figure 15.

Ainsi, se trouvent rapprochés ces protides par leur similitude chimique. Nous avons là, trois albumines ; l'une provient de l'œuf de poisson, l'autre de l'œuf d'oiseau, la troisième est destinée à servir à l'ali-

mentation du jeune mammifère. L'analogie de leur constitution est cependant telle que rien sur nos courbes ne permet de les différencier. En dépit des différences morphologiques, les éléments qui serviront à l'édification des molécules restent les mêmes.

III. — La clupéine mérite une place à part. On connaît sa constitution très particulière, formée presque essentiellement d'arginine (82 %). Sa molécule comporte en outre quelques amino-acides, encore assez incomplètement étudiés, parmi lesquels on a noté la sérine. La courbe traduisant les variations de la différence N.V.S. — N.S. de cette albumine (fig. 15) évolue très lentement. La rupture des groupement peptidiques en polypeptides semble particulièrement traînante.

La courbe traduisant la libération des groupes aminogènes (fig. 9) présente deux aspects successifs bien différents. Elle contraste par là, avec les courbes des autres protides qui se développent avec une certaine régularité.

Nous pensons que le premier temps qui traduit une libération rapide de ces groupes peut être expliqué par l'abandon d'un certain nombre d'amino-acides qui, sans entrer dans la charpente même de cette protamine, constituent plutôt des éléments surajoutés. Un tel abandon d'amino-acides ne s'inscrit pas sur la figure 15, qui ne porte pas de déformation.

Le second temps, plus lent, provient pensons-nous, de la libération des diamines depuis les polypeptides. Il correspond à la courbe de la figure 15. Ce temps est lent et régulier.

En résumé, la clupéine doit donc être constituée par une charpente peptidique à base d'arginine sur laquelle se fixent en quelque sorte superficiellement d'autres amino-acides.

CONCLUSIONS GENERALES

I. — Nous avons poursuivi l'étude de la cinétique de l'hydrolyse des protides.

La libération des groupements aminés était provoquée par des liquides d'acidité croissante. Elle était suivie au moyen de dosages Van Slyke et de dosages Sörensen. Elle s'est réalisée avec une extrême régularité.

Les graphiques qui traduisent la marche de ces différentes hydrolyses, nous permettent de distinguer deux types de protides. Le plus souvent (lorsqu'il s'agit de la gélatine, de la caséine, de la clupéine, de la clupéovine, de l'ovalbumine, de l'édestine cristallisée), les courbes aboutissent à des plateaux qui traduisent l'établissement d'un équilibre. Ces équilibres sont d'ailleurs d'autant plus élevés que la quantité d'agent d'hydrolyse employée est elle-même plus grande. Pour les acidités faibles, la formule $K = \frac{x}{\sqrt{t}}$ donne assez exactement la valeur de la constante d'hydrolyse. La fibroïne au contraire, même en présence de faible quantité d'acide, libère toujours la totalité de ses groupements aminés et se transforme toujours intégralement en amino-acides. Sa constante d'hydrolyse peut être considérée comme étant du premier ordre $\left(K = \frac{1}{t} \operatorname{Log}_n \frac{x}{a-x}\right)$. Les cyclopeptides de synthèse présentent une hydrolyse du premier type aboutissant à des plateaux.

Nous pensons trouver là un argument en faveur d'une constitution cyclo-peptidique de protéines telles que la gélatine, la caséine, la clupéine, la clupéovine, l'ovalbumine et l'édestine cristallisée.

Nous pensons au contraire que la fibroïne présente au moins pour la portion principale de sa molécule une constitution différente.

2. — Nous avons pu montrer que la glycyl-glycine et la diglycyl-glycine en solution aqueuse comportent un hydrogène mobile. dont l'acidité n'est point compensée par la basicité des groupes aminés. L'existence de cet ion hydrogène est liée à l'intégrité du groupe NH^2. Nous avons émis diverses hypothèses pour expliquer sa nature.

De ce fait résulte deux conséquences :

a) Nous avons montré que du côté alcalin du $P_H = 5,4$ la glycyl-glycine s'unit aux métaux et se comporte comme un acide. Le P_H : 5,4 présente donc les caractères d'un véritable point iso-électrique si l'on donne à cette dénomination un sens purement chimique.

b) La présence de cet hydrogène mobile et le pouvoir tampon assez élevé de la glycyl-glycine occasionnent de gros écarts de dosages, si l'on pratique la formol-titration au moyen de réactifs colorés, dont le virage se réalise dans la zone alcaline.

3. — L'expérience montre que la titration au formol obtenue avec une double neutralisation (pré et post-formolique) au moyen de la phénol-phtaléine comme indicateur fournit pour la glycyl-glycine et la diglycyl-glycine des chiffres inférieurs à ceux qu'exige la théorie.

Il est de notion classique au contraire que le dosage selon la technique de Van Slyke fournit un chiffre trop élevé.

Il s'établit donc pour les polypeptides un écart important entre ces deux dosages, et cette différence peut être facilement calculée ; Nous l'avons désignée par le symbole N.V.S. — N.S. Cette différence n'existe pas pour les amino-acides.

Nous avons suivi son évolution :

a) Pendant l'hydrolyse de la cyclo-glycyl-glycine. Elle arrive rapidement à son maximum au moment où est libérée la glycyl-glycine par éclatement du cycle. Elle s'atténue ensuite au fur et à mesure que le peptide se divise en glycocolle.

b) Nous retrouvons le même phénomène pendant l'hydrolyse de l'acétyl-glycyl-glycine anilide.

c) Il réapparaît encore au cours de l'hydrolyse des protéines. La différence N.V.S. — N.S. s'accroît, passe par un maximum puis décroît jusqu'à la fin de l'hydrolyse. Nous pensons que le moment de son maximum correspond à la présence d'une quantité maximum de polypeptides dans le liquide d'hydrolyse.

Nous avons, de ces faits, déduit une technique qui nous permet de suivre la libération des polypeptides au cours de l'hydrolyse des protéines, puis leur division en amino-acides. Elle nous a permis de classer les protéines d'après leur comportement vis-à-vis de l'hydrolyse acide.

4. — Nous avons ainsi pu caractériser :

a) La fibroïne qui libère rapidement ses polypeptides et se présente comme résistante à l'hydrolyse acide.

Nous avons vu que la forme des courbes du développement de ses groupes NH^2 au cours de l'hydrolyse permet de lui supposer une constitution très particulière, nous avons à ce point de vue rappelé l'opinion de Brill, opinion basée sur des études Roentgenographiques.

b) La gélatine aussi labile que la fibroïne mais aboutissant toujours à des plateaux qui rappellent le type cyclopeptidique.

c) Un groupe formé par des albumines servant à la nutrition du jeune (ovalbumine, caséine, clupéovine).

Les albumines de ce groupe suivent la même évolution hydrolytique et ne peuvent être différenciées les unes des autres. Elles libèrent lentement leurs polypeptides et s'opposent au type à rupture brusque des groupes peptidiques que représentent bien la fibroïne et la gélatine.

d) L'édestine cristallisée qui apparaît en quelque sorte comme intermédiaire entre les classes précédentes. Ses groupes peptidiques présentent une certaine résistance, mais ses polypeptides se scindent en acides aminés peu après leur libération.

c) Enfin, la clupéine qui offre une très grande résistance à l'hydrolyse. Ses groupes peptidiques ne se détruisent que très lentement tandis que des amino-acides, n'entrant probablement pas dans la charpente peptidique de cette protamine, s'en séparent très rapidement.

Notre classification chimique semble s'accorder assez bien avec une classification physiologique qui grouperait d'une part les protéines servant à la constitution des tissus adultes et, d'autre part, les protéines destinées à la nutrition du jeune.

Sur la constitution de la chitine [1]

Nous avons réalisé un certain nombre d'hydrolyses acides de la chitine, en nous plaçant dans les conditions expérimentales que nous avions adoptées pour les protides.

Nous nous sommes assuré au préalable de la valeur des dosages que nous aurions à réaliser. Pour cela, nous avons préparé du chlorhydrate de glucose-amine très purifié par un grand nombre de cristallisations successives.

Un dosage du groupe NH^2 libre dans le chlorhydrate de glucose-amine, par la méthode de Van Slyke, nous a donné 6,32 %, alors que la théorie prévoit 6,49 %.

Des dosages Bertrand sur des solutions plus ou moins concentrées nous ont montré qu'il existe une proportion directe entre la quantité de chlorhydrate de glucose-amine employée et la quantité de cuivre réduit, on a ainsi :

Solution à 2 gr. 230 pour 100 cc.
1 cc. réduit 0 gr. 042 de cuivre
Solution à 0 gr. 223 pour 100 cc.
1 cc. réduit 0 gr. 0042 de cuivre

1. Publié dans notre thèse de doctorat ès sciences.

Solution à 0,0223 *pour* 100 *cc.*
1 cc. réduit 0 gr. 00042 de cuivre

Ainsi 42 mmgr. de cuivre réduit correspondent, d'après notre expérience à 22,3 mgr. de chlorhydrate de glucosamine. D'après G. Bertrand, ils correspondent à 21 mgr. de glucose.

Nous avons donc pratiqué des prélèvements au cours de l'hydrolyse de la chitine et, sur ces prises d'essai, nous avons réalisé d'une part un dosage de la fonction réductrice par la technique de Bertrand, d'autre part un dosage de la fonction amine par un dosage Van Slyke.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

1° Acidité en HCl : 5,45 %.

La quantité d'azote aminé libéré est insignifiante et ne peut être exactement dosée.

Le sucre par contre suit un développement régulier, on a :

Heures	10	20	29
Sucre en glucose	3,92	5,2	9,32

2° Acidité en HCl : 11 22 %.

Heures	Sucre °/°	N Van Slyke	Sucre / Azote
7	13,4	1,2	11,1
16	24	2,19	10,9
23	29,6	2,85	10,3
35	38		

3° Acidité en HCl : 29,92 %.

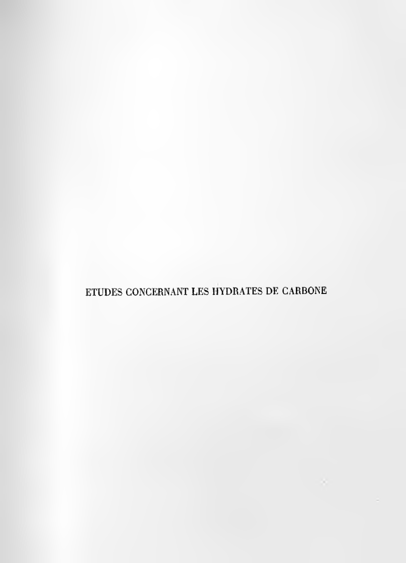
Heures	Sucre °/°	N Van Slyke	Sucre / Azote
2	21	4,06	5,1
6 1/4	46	5,57	8,25
10	64	5,31	12
19	88	5,31	16

Nos observations montrent deux points :

1° Alors que le sucre se développe de façon régulièrement croissante, l'azote aminé arrive vite à la constitution d'un équilibre et, dès lors, cesse de se développer.

2° Le rapport $\frac{\text{sucre}}{\text{azote}}$ qui serait constant si une liaison en se rompant libérait à la fois une fonction amine et une fonction aldéhyde est, au contraire, le plus souvent extrêmement variable. A peine une légère correspondance, pour un acidité en HCl : 11,22 % doit-elle être notée.

Nous en concluons que dans la plus grosse partie de la molécule il existe une indépendance absolue entre les deux fonctions amine et aldéhyde.



ETUDES CONCERNANT LES HYDRATES DE CARBONE

RECHERCHES AU SUJET DE L'ACTION EXERCÉE PAR L'INSULINE SUR DIFFÉRENTS HYDRATES DE CARBONE

Thèse de Médecine, Lyon, 1924

Travail du Laboratoire de chimie médicale de la Faculté de médecine de Lyon

Sous la direction de notre Maître, M. le Professeur Hugounenq, nous avons, en **1923**, abordé l'étude de la chimie biologique par une série de recherches sur les actions exercées in vitro par l'insuline sur différents hydrates de carbone.

Ces recherches ont fait le sujet de notre thèse de doctorat en médecine.

Nous nous sommes efforcé dans ce travail de préparer en quantité suffisante pour l'expérimentation une insuline active. La préparation en était faite par la méthode de Chabannier. L'activité en était éprouvée sur le lapin. Le sérum du sang prélevé directement dans le ventricule était soumis à un dosage de sucre par la méthode de Fontès et Thivolle.

Nous avons essayé diverses méthodes de purification. Une précipitation par l'acide picrolonique nous a livré de beaux cristaux. Mais ceux-ci ne présentaient pas d'activité physiologique.

Notre étude a consisté surtout en une série de recherches sur l'action de l'insuline in vitro.

Nous n'avons obtenu que des résultats négatifs avec certains hydrates de carbone (glucose, galactose, levulose, maltose, saccharose, lactose, dextrine, glycogène, acide hexose phosphorique, en solution aqueuse), en présence de sérum, ou en présence d'un certain nombre d'organes : poumon frais, foie lavé (selon la technique de Claude Bernard).

Par contre, l'étude de l'action de l'insuline sur les ferments du sérum frais s'est montrée plus fructueuse.

Etude du ferment glycolytique

1er *Résultat.* — Nous avons placé 20 heures à l'étuve:

Tube contenant sang défibriné: 20 cm3. Résultat: à la sortie de l'étuve, il n'y a plus trace de sucre.

Tube contenant sang défibriné: 20 cm3; glucose: 20 cm3 à 20 p. 1.000 ; eau : 2 cm3. A la sortie de l'étuve, on a 0 gr. 233 de sucre.

Tube contenant sang défibriné : 20 cm3, glucose : 20 cm3 à 20 p. 1.000, insuline: 2 cm3. A la sortie de l'étuve il reste: 0 gr. 17 de sucre.

L'insuline a donc nettement activé ce phénomène.

2e *Résultat.* — On place à l'étuve pour 18 heures:

Tube contenant glucose: 20 cm3 à 22 p. 1.000; sang défibriné: 20 cm3, eau : 2 cm3. A la sortie de l'étuve on a 0 gr. 305 de sucre.

Tube contenant glucose: 20 cm3 à 22 p. 1.000, sang défibriné: 20 cm3; insuline: 2 cm3. A la sortie de l'étuve on a 0 gr. 235 de sucre. Là encore on a une activation très nette de la glycolyse par insuline.

3e *Résultat.* — On place à l'étuve:

Tube contenant glucose: 40 cm3 à 22 p. 1.000; sang: 5 cm3; insuline ou eau: 2 cm3.

Dans les deux cas on trouve après 6 heures d'étuve : 0 gr. 78.

Ici on avait une forte dose de sucre pour peu de sang. On a laissé un temps assez court à l'étuve, l'insuline n'a pas agi.

Conclusion. — L'activation du ferment glycolytique par l'insuline est un phénomène qui semble gagner en intensité quand la concentration en sucre diminue.

Etude du ferment maltolytique. — On a signalé un ferment maltolytique dans le sérum normal, nous l'avons spécialement recherché dans un sérum vieilli de chien normal. Ce sérum avait perdu tout son pouvoir glycolytique il était cependant encore actif sur la maltose. Nous avons retrouvé le ferment maltolytique dans du sérum frais de cheval, enfin dans du sérum de diabétique. Nous avons toujours constaté qu'il est nettement activé par l'insuline, encore que cet accroissement d'activité fut, toute chose égale d'ailleurs, d'une grande variabilité.

1[er] *Résultat.* — On place 20 heures à l'étuve le mélange suivant:
Maltose: 30 cm3 à 17 p. 1.000.
Sérum: 10 cm3.
Insuline: 2 cm3.

Après 20 heures d'étuve, nous trouvons au dosage Bertrand une solution qui, calculée en glucose, serait à 0,57 %; au polarimètre, une solution qui, calculée encore en glucose, serait de 0,43 %, ce qui montre que la transformation dans ces conditions s'effectue à peu près en 20 heures.

Pendant la période intermédiaire on a un mélange de maltose non encore détruit et de glucose qui vient de se produire par hydrolyse du maltose. Or, le glucose est environ deux fois plus réducteur que le maltose:

40 millig. de glucose donnent: 77 millig. 5 de cuivre réduit.

40 millig. de maltose donnent: 44 millig. 1 de cuivre réduit.

La déviation du maltose est au contraire plus du double de celle

du glucose: glucose = + 52°5; maltose = + 140° donc, plus l'hydrolyse est avancée, plus la réduction est intense, moins grande est la déviation. Et les deux chiffres se rapprochent l'un de l'autre pour se confondre au moment où la transformation en glucose est complète.

Nous avons laissé à l'étuve, pendant 16 heures, les solutions suivantes. Voici les résultats:

2° *Résultat.* — On place à l'étuve: maltose 30 cm3 à 17 p. 1.000. Sérum 10 cm3, Insuline ou eau 2 cm3.

Témoin: au polarimètre: 1,26 %; dosage Bertrand: 0,74 %. Différence = 25.

Tube insuliné au polarimètre: 1,04 %; dosage Bertrand: 0,8 %. Différence = 0,24. Donc, le ferment a été nettement activé par l'insuline.

3° *Résultat.* — Placé dans les mêmes conditions, on obtient:

Témoin: au polarimètre: 1,26 %; au dosage Bertrand: 0,80 %. Différence = 0,46.

Tube insuliné, au polarimètre : 0,98 % ; au dosage Bertrand : 0,81 %. Différence = 0,17.

4° *Résultat.* — Les conditions sont encore semblables: on trouve:

Témoin au polarimètre: 1,30 %; au dosage Bertrand: 0,76 %. Différence = 54.

Tube insuliné, au polarimètre: 1 %; au dosage Bertrand: 0,85 %. Différence = 0,15.

Les résultats sont donc variables, quoique constamment positifs, et l'on ne peut affirmer que la constance de l'exagération du pouvoir maltolytique du sang par l'insuline, sans pouvoir préciser exactement dans quelle mesure.

Nous avons pu constater dans le sang la présence d'un ferment qui détruit les dextrines; nous pensons que ce ferment n'avait point encore

été signalé, car il n'en est pas fait mention dans les différents ouvrages consultés par nous. L'insuline est sans action sur l'activité de ce ferment.

Nous plaçons à l'étuve pendant 20 heures:

Dextrine à 20 p. 1.000: 20 cm3.
Sérum: 20 cm3.
Insuline ou eau: 2 cm3.

Dans les deux cas nous avons une production de 40 milligrammes de corps réducteurs, calculés en glucose, pour 5 cm3 de ce produit débarrassé de ses albuminoïdes.

Nous avons étudié l'action d'un ferment du sérum normal qui détruit le glycogène, nous avons retrouvé ce ferment sur lequel l'insuline est également sans action.

Nous avons placé à l'étuve:

Glycogène: 40 cm3 à 20 p. 1.000.
Sérum: 20 cm3.
Eau ou insuline: 2 cm3.

On a 10 milligrammes de corps réducteurs calculés en glucose, après 20 heures d'étuve, dans les deux cas.

Ainsi il existe normalement dans le sang:

1° Un ferment glycolytique, sur lequel l'insuline a une action très variable.

2° Un ferment maltolytique, sur lequel l'insuline exerce une action toujours positive.

3° Enfin, deux ferments hydrolysant : l'un la dextrine, l'autre le glycogène, sur lesquels l'insuline est sans action.

Le ferment hydrolysant la dextrine n'avait pas été signalé avant nos recherches, nous croyons être le premier à déceler sa présence dans le sérum.

VARIATIONS DES DIVERSES FORMES DU PHOSPHORE SOUS L'INFLUENCE DU DIABÈTE ET DES PRINCIPES HYPOGLYCÉMIANTS (1)

On sait, depuis les travaux d'Embden et de son école, le rôle important que joue le phosphore dans le métabolisme des glucides. Le sang renferme le phosphore sous des formes variables: 1° forme anorganique; 2° formes organiques. L'on peut, d'autre part, ranger dans cette dernière classe divers types de molécules organiques phosphorées: le phosphore lipoïdique, le phosphore éthérifié comportant surtout un éther hexose-phosphorique ou lactacidogène, et enfin un phosphore restant obtenu en soustrayant au phosphore total l'ensemble des phospores salin, lipoïdique et éthérifié. Il correspond à ce que Embden désigne sous le nom de « phosphore organique restant ».

Or, on sait que, au niveau du muscle, un polymère du glucose se copule avec le phosphore organique restant pour donner du lactacidogène qui se détruit pendant la contraction musculaire en se décomposant en acide lactique et acide phosphorique.

Il nous a donc semblé intéressant de suivre les modifications de ces diverses formes du phosphore sous l'influence des facteurs qui modifient le métabolisme normal des glucides: influence pathologique du diabète d'une part, influence thérapeutique des hypoglycémiants d'autre part.

Les méthodes que nous avons utilisées pour nos recherches sont les suivantes:

1 *Bull. de la Société de chimie biol.*, tome X, n° 5, mai 1928.

1° Le dosage des sucres a été réalisé par la méthode de Fontès et Thivolle.

2° Le dosage du phosphore salin et du phosphore éthérifié a été pratiqué par les méthodes de Macheboeuf.

3° Le dosage du phosphore lipoïdique fut exécuté par la méthode de Lemeland.

4° Nous avons calculé le phosphore organique total et le phosphore organique restant d'après les formules:

Phosphore organique total = Phosphore total — Phosphore salin.
Phosphore organique restant = Phosphore total — (Phosphore salin + Phosphore éthérifié + Phosphore lipoïdique).

I. — Le dosage des formes diverses du phosphore plasmatique: chez l'homme normal, chez le diabétique en dehors de toute influence de l'insuline, et chez le diabétique subissant l'action de l'insuline, permet d'exprimer diverses règles qui peuvent être ainsi formulées:

1° *Phosphore total.*

Nous avons obtenu les moyennes suivantes:

Homme normal	0,082
Diabétique	0,123
Diabétique insuliné	0,109

(calculé en grammes pour 1 litre de plasma).

On voit donc que: *le plasma des diabétiques contient plus de phosphore total que le plasma de l'homme normal.*

2° *Phosphore salin.*

Nous avons obtenu les moyennes suivantes:

Homme normal	0,029
Diabétique	0,015
Diabétique insuliné	0,036

(calculé en grammes pour 1 litre de plasma).

On voit donc que: *le plasma du sujet diabétique contient environ deux fois moins de phosphore salin que le plasma de l'homme normal.*

3° *Phosphore organique total.*

Homme normal	0,054
Diabétique	0,107
Diabétique insuliné	0,075

(calculé en grammes pour 1 litre de plasma).

On voit donc que: *le plasma du sujet diabétique contient environ deux fois plus de phosphore organique total que le plasma de l'homme normal.*

Si l'on cherche quelle est la forme de phosphore organique qui provoque cette exagération, on trouve les résultats suivants:

4° *Phosphore lipoïdique.*

Nous avons obtenu les moyennes suivantes :

Homme normal	0,038
Diabétique	0,049
Diabétique insuliné	0,051

(calculé en grammes pour 1 litre de plasma).

On voit donc que: *le plasma du sujet diabétique renferme un peu plus de phosphore lipoïdique que le plasma de l'homme normal* (*environ un tiers en plus*).

5° *Phosphore organique restant.*

Nous avons obtenu les moyennes suivantes :

Homme normal	0,0107
Diabétique	0,0200
Diabétique insuliné	0,0085

(calculé en grammes pour 1 litre de plasma).

On voit donc que: *le plasma du sujet diabétique renferme environ deux fois plus de phosphore organique restant que le plasma de l'homme normal.*

6° *Phosphore organique éthérifié.*

Nous avons obtenu les moyennes suivantes:

Homme normal	0,005
Diabétique	0,037
Diabétique insuliné	0,016

(calculé en grammes pour **1** litre de plasma).

On voit que: *le plasma du sujet diabétique renferme sept fois plus de phosphore éthérifié que le plasma de l'homme normal.*

II. — L'insuline injectée chez le diabétique agit de façons très diverses, suivant le type de phosphore étudié. Il est possible de résumer ainsi son action:

1° *L'insuline est sans action sur le phosphore lipoïdique;*

2° *Pour toutes les autres formes du phosphore, l'injection d'insuline tend à rétablir le type normal.*

Elle élève donc le taux du phosphore salin, dépassant même le type normal.

Elle abaisse par contre le taux du phosphore organique total et cette modification porte à la fois sur le phosphore éthérifié et sur le phosphore organique restant.

3° Nous avons examiné l'action de l'insuline sur les diverses formes de phosphore plasmatique chez l'animal normal. Nous avons trouvé que cette action s'exerce dans le même sens que chez le diabétique. Il convient toutefois de noter les différences suivantes:

a) L'abaissement du taux du phosphore organique est un peu plus intense chez l'animal normal que chez le sujet diabétique. Il est aussi plus complet puisqu'il porte sur le phosphore lipoïdique.

b) Au contraire, l'augmentation subie par le phosphore salin chez le diabétique, sous l'action de l'insuline, ne se retrouve que très atténuée, à peine sensible, chez l'animal normal.

Or, c'est sur ce point que nos conclusions tirées de l'étude du diabétique s'opposent à celles déduites par les auteurs anglais et américains de l'expérimentation sur l'animal normal;

En résumé. — On note:

1° Chez le diabétique, une diminution du phosphore salin du plasma; une augmentation au contraire du phosphore organique du plasma, cette augmentation affectant surtout le phosphore éthérifié qui est multiplié par 7, et le phosphore organique restant, qui est doublé.

2° Chez le diabétique et chez l'animal normal, l'insuline et la synthaline agissent sur les diverses formes du phosphore.

Au niveau du sang, les transformations subies tendent à rétablir le type normal. On a donc:

Elévation du phosphore salin.

Abaissement du phosphore éthérifié et du phosphore restant.

Aucune action sur le phosphore lipoïdique.

ETUDE DE CHIMIE PATHOLOGIQUE

Parallèlement aux études de chimie biologique, nous nous sommes efforcé de pratiquer quelques recherches sur des sujets de chimie pathologique. Elles ont porté sur trois points :

1° Une étude des formes organiques du phosphore dans les néoplasmes, qui nous a montré une exagération de ces formes.

2° Une recherche sur la teneur en chlorure des produits de l'expectoration chez les malades cardiaques et rénaux, qui nous a montré une véritable rétention chlorurée pulmonaire chez ces malades.

3° Enfin, nous avons pratiqué quelques recherches sur le métabolisme basal dans les affections thyroïdiennes.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES FORMES ORGANIQUES

DU PHOSPHORE DANS LES NÉOPLASMES (1)

A la suite de la publication de méthodes précises permettant de doser les différentes formes du phosphore organique, dans les cellules animales, nous avons pensé qu'il serait intéressant de rechercher quelles sont les modalités organiques du phosphore dans la cellule cancéreuse.

Nous avons dosé dans des tissus sains, dans des tumeurs bénignes et dans des tumeurs malignes, le phosphore nucléinique et le phosphore lipoïdique.

MÉTHODES EMPLOYÉES

Nous nous servions de tissus prélevés chirurgicalement lors de l'exérèse des tumeurs. Les pièces recueillies au moment même de l'intervention étaient immédiatement transportées au laboratoire et traitées, de sorte qu'il ne s'écoulait, entre le moment où la pièce était détachée de l'organisme vivant et le moment où elle était chimiquement fixée, que quelques minutes.

Ces pièces étaient traitées immédiatement après leur ablation pour éviter toute action nécrobiotique, la nécrobiose jouant parfois un rôle considérable, comme nous avons pu nous en rendre compte sur les dosages en série, pratiqués sur des chorions.

1 *Bull. de la Société de chimie biol.*, t. IX, n° 9, novembre 1927.

Le tableau suivant en rend compte.

Dosage immédiat	: 23 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche			
— 1 h. après la délivrance	: 20	—	—	—
— 6 h.	—	: 11 —	—	—
—48 h.	—	: 10 —	—	—

1° Le tissu était alors plongé dans l'alcool à l'ébullition durant 30 minutes, pulpé au moyen d'un moulin turc et traité selon la méthode de MM. Javillier et Allaire pour l'isolement du phosphore nucléinique.

2° Une autre partie des tissus recueillis était pulpée au moulin turc. On pratiquait alors pendant 10 heures une extraction alcoolique avec l'appareil de Kumagawa-Suto et l'on terminait suivant la méthode de Lemeland pour l'isolement du phosphore lipoïdique.

3° Après destruction sulfonitrique, le phosphore était dosé par la méthode de Posternak.

L'étude chimique rationnelle du cancer ne pouvant être faite utilement que par une comparaison constante entre les résultats obtenus par le chimiste et ceux fournis par l'histologiste, nous n'avons retenu dans notre étude que les cas suivis d'examens histologiques, en ayant éliminé un grand nombre.

C'est par le dosage du phosphore nucléinique que nous avons commencé cette étude. Nous en exposerons les résultats en distinguant les néoplasmes d'origine épithéliale des néoplasmes d'origine conjonctive.

I. — Tumeurs d'origine épithéliale.

A. — *Tumeurs malignes.*

Cas n° 1. — Epithélioma du sein:
Phosphore nucléinique : 32 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Cas n° 2. — Epithélioma du corps utérin:
Phosphore nucléinique: 35 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 3. — Néoplasme du sein:
Epithélioma atypique.
Phosphore nucléinique: 33 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

B. — *Tumeurs bénignes.*

Cas n° 4. — Adéno-fibrome du sein:
Phosphore nucléinique: 26 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 5. — Adéno-fibrome du sein:
Phosphore nucléinique : 20 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 6. — Adéno-fibrome du sein:
Phosphore nucléinique : 23 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

C. — *Organes normaux:* Sein normal.

Cas n° 7:
Phosphore nucléinique: 18 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 8:
Phosphore nucléinique: 16 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 9:
Phosphore nucléinique: 19 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Il s'agit de fragments de glande macroscopiquement saine, enlevés lors d'une ablation totale du sein et prélevés aussi loin que possible du foyer néoplasique.

En somme, nous pouvons opposer les chiffres suivants:

Tumeur maligne, moyenne: 33 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Tumeur bénigne, moyenne: **23** mgr. p. **100** gr. de substance fraîche.

Tissus normaux, moyenne. **18** mgr. p. **100** gr. de substance fraîche.

D. — *Tumeurs bénignes du corps thyroïde*

Nous avons eu l'occasion d'étudier différentes tumeurs bénignes du corps thyroïde.

Cas n° 10. — Goitre basedowifié:

21 mgr. p. **100** gr. de substance fraîche.

Cas n° 11. — Goitre basedowifié :

21 mgr. p. **100** gr. de substance fraîche.

Que l'on peut opposer à des fragments de glandes saines qui ont donné:

Cas n° 12. — **10** mgr. p. **100** gr. de substance fraîche.

Cas n° 13. — **9** mgr. p. **100** gr. de substance fraîche.

II. — Tumeurs d'origine conjonctive et musculaire.

A. — *Tumeurs malignes.*

Cas n° 14. — Lipo-sarcome de la fesse.

Phosphore nucléinique: **26** mgr. p. **100** gr. de substance fraîche.

B. — *Tumeurs bénignes.*

Nous avons étudié plusieurs cas de fibro-myomes utérins. Ils nous ont donné les chiffres de:

Cas n° 15:

Phosphore nucléinique: 18 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Cas n° 16:

Phosphore nucléinique: 11 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Cas n° 17:

Phosphore nucléinique. 16 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

C. — *Utérus normal.*

Cas n° 18:

Phosphore nucléinique: 13 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Le tableau suivant résume ces données:

Tissu normal	Tumeur bénigne	Tumeur maligne
—	—	—
Numéro 7: 18 mgr.	Numéro 4: 26 mgr.	Numéro 1: 32 mgr.
— 8: 16 mgr.	— 5: 20 mgr.	— 2: 35 mgr.
— 9: 19 mgr.	— 6: 23 mgr.	— 3: 33 mgr.
— 12: 10 mgr.	— 10: 21 mgr.	— 14: 26 mgr.
— 13: 9 mgr.	— 15: 18 mgr.	
— 18: 13 mgr.	— 16: 11 mgr.	
	— 17: 16 mgr.	
	— 11: 21 mgr.	
Moyennes: 14 mgr.	19 mgr. 5	31 mgr. 5

Il nous a semblé intéressant de rapprocher de ces chiffres ceux trouvés dans le dosage du phosphore nucléinique des différents chorions.

Cas n° 19:

Phosphore nucléinique : 24 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Cas n° 20:
Phosphore nucléinique: 23 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 21:
Phosphore nucléinique: 22 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

On voit donc que le chorion se range dans les tumeurs bénignes.

Ainsi, on peut conclure de cette étude à l'augmentation très nette du phosphore nucléinique dans les tumeurs malignes.

***

Le dosage du phosphore lipoïdique nous a donné les résultats suivants qui semblent montrer une évolution dans le même sens que le phosphore nucléinique, en tenant compte cependant de la dégénérescence graisseuse et de la nécrobiose tissulaire qui paraissent augmenter la quantité de phosphore lipoïdique.

1. — *Tumeurs malignes.*

Cas n° 24: — Epithélioma du sein:
Phosphore lipoïdique: 32 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 25. — Epithélioma du sein:
Phosphore lipoïdique: 34 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 26. — Epithélioma polymorphe du sein:
Phosphore lipoïdique: 30 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 27. — Epithélioma dendritique du sein:
Phosphore lipoïdique: 37 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Cas n° 28. — Epithélioma alvéolaire du sein:
Phosphore lipoïdique: 43 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.
Moyenne de ces cinq cas:
Phosphore lipoïdique: 35 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

II. — *Tumeurs bénignes.*

Cas n° 29. — Adéno-fibrome du sein:

Phosphore lipoïdique: 25 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Cas n° 30. — Fibrome utérin:

Phosphore lipoïdique: 28 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Cas n° 31. — Adéno-fibrome du sein, sans aucun signe de dégénérescence:

Phosphore lipoïdique: 23 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Moyenne de ces trois cas:

Phosphore lipoïdique: 25 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

III. — *Glandes normales.*

Phosphore lipoïdique: 21 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

On voit que là encore, les tumeurs malignes présentent une proportion plus grande de phosphore lipoïdique que les tumeurs bénignes, qui, elles-mêmes, dépassent légèrement la glande normale.

Effets de l'irradiation.

Un certain nombre de ces tumeurs ont été irradiées par les rayons dits très pénétrants dans le service de M. le Professeur Bérard. Elles ont reçu 12 à 15 H. par centimètre carré sur toute la région néoplasique avec un appareil à tension constante de 200 k. volts, 3 milliampères, avec 5 dixièmes de cuivre et 2 mm. d'aluminium.

Dans un certain nombre de cas, où l'examen clinique fut pratiqué assez longtemps après l'irradiation sans montrer aucune amélioration,

nos examens chimiques ne nous ont montré eux non plus aucune anomalie. Le chiffre fourni par le dosage rentrait dans la catégorie de ceux que nous venons d'exposer.

Il n'en va pas de même dans les deux cas suivants :

Cas n° 32. — Cancer du sein:

Il s'agit d'un cancer opéré un an au préalable et ayant donné une récidive mammaire avec ganglions axillaires. On pratique un traitement radiothérapique après lequel on note une diminution importante de la tumeur, ainsi que de l'adénopathie axillaire. L'exérèse est pratiquée et l'examen histologique montre: sur la plus grande partie de la coupe, il n'existe que des acinis glandulaires normaux avec grosse infiltration inflammatoire périglandulaire. En quelques points existent des noyaux atypiques sans signe de différenciation. Dans ce cas de tumeur, de type complexe, le phosphore nucléinique devrait être, d'après notre étude, de 20 à 30 mgr. p. 100 gr.; en fait, nous le trouvons de 12 mgr. p. 100 gr. de tissu frais.

Le taux du phosphore lipoïdique par contre est augmenté.

Dans un tel tissu, il devrait être, d'après nos recherches, de 30 mg. p. 100 gr. environ; en réalité, nous avons trouvé 52 mgr. de phosphore lipoïdique p. 100 gr. de tissu frais.

Cas n° 33. — Peut être rapproché du précédent. Il s'agit de la deuxième récidive d'un cancer du sein opéré il y a huit ans et qui, cliniquement, est représenté par une tumeur de la grosseur d'une mandarine. Des séances de radiothérapie furent pratiquées du 10 au 17 juin 1927 et l'intervention eut lieu le 23 juin. L'examen histologique montre un épithélioma métatypique avec îlots pseudo-glandulaires sécrétants très nombreux. Un stroma assez abondant, mais très inflammatoire. On voit d'après le tableau antérieur que cette tumeur, d'un type un peu complexe, devrait donner une proportion de phosphore nucléinique comprise entre 20 et 30 mgr. En réalité, elle donne:

Phosphore nucléinique: 10 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Par contre, le phosphore lipoïdique est extrêmement exagéré.

Phospore lipoïdique: 60 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

On voit donc que l'irradiation semble:

1° Diminuer le phosphore nucléinique;

2° Augmenter le phosphore lipoïdique.

Nous signalons enfin le résultat de l'étude de deux tumeurs d'un type un peu spécial.

Cas n° 34. — Lipome de la paroi abdominale bien encapsulé.

Phosphore nucléinique: 5 mgr. 8 p. 100 gr. de substance fraîche.

Phosphore lipoïdique: quantité indosable.

Ces caractères sont ceux de la graisse voisine; donc le lipome se comporte pour l'utilisation du phosphore comme le tissu normal dont il émane: c'est-à-dire comme une graisse de réserve. L'absence de dégénérescence notée par les cliniciens dans ces tumeurs correspond bien à cette observation.

Cas n° 35. — Lipome symétrique de la nuque.

Phospore nucléinique: 6 mgr. p. 100 gr. de substance fraîche.

Cette tumeur très particulière se comporte donc comme un lipome banal.

Conclusions.

Il nous semble que de cette étude résultent trois faits importants:

1° On note dans les cancers une augmentation du phosphore nucléinique;

2° On note de même une augmentation du phosphore lipoïdique;

3° La radiothérapie, dans les cas cliniquement améliorés, augmente le phosphore lipoïdique et diminue au contraire le phosphore nucléinique jusqu'à le ramener à un taux très inférieur à celui de la glande saine.

Tout se passe donc comme si le phosphore de la cellule cancéreuse se trouvait sous une forme hyper-active, à l'état de nucléoprotéide.

Dans les cancers non traités, on note également une exagération du taux des lipoïdes.

Dans le cancer irradié, les choses se passent comme s'il y avait une dégénérescence des éléments cancéreux qui se traduit chimiquement par une régression des nucléo-protéides dont le phosphore tombe dans les réserves lipoïdiques, celles-ci se trouvant augmentées du fait de l'irradiation.

SUR LA TENEUR EN CHLORURES DES PRODUITS DE L'EXPECTORATION [1]

Nous avons dosé les chlorures dans l'expectoration de divers malades du service hospitalier de M. le Docteur Gallavardin. Ces dosages, rapprochés de nos observations cliniques, nous ont amenés aux conclusions suivantes:

1° Asthme essentiel et bronchite chronique donnent une moyenne de 0,65 pour 100 de chlorures et ne descendent guère au-dessous de 0,60 pour 100.

2° La moyenne chez les cardiaques est environ de 0,50.

3° La moyenne du type cardio-pulmonaire est de 0,54 pour 100, type intermédiaire entre les cardiaques purs 0,50 pour 100 et les types pulmonaires 0,65 pour 100.

4° Il nous a semblé que l'hypertension diminue le pourcentage des chlorures.

5° Le type néphrétique donne une moyenne de 0,40 pour 100.

Un tel schéma peut servir dans la discussion du rôle des différents éléments, chez le même malade, dans la constitution des crachats. En voici un exemple:

Malade âgée de 30 ans, présentant depuis plusieurs années:

D'une part, une albuminurie post-puerpérale variable avec une

1. *Presse médicale*, n° 72, 8 septembre 1926.

T. A. qui oscille entre 250/120 et 190/115. Urée du sang le 10 janvier 1926: 1 gr. pour 1.000.

D'autre part, des crises d'asthme. Ces crises, apparues dans l'enfance, avaient rétrocédé après ablation de polypes. Elles réapparurent en 1919 à la suite d'intoxication par gaz d'éclairage. Elles sont fréquentes surtout au printemps et en automne, début marqué par un écoulement nasal intense. Elles rétrocèdent complètement sous l'action d'une injection de 1/2 mgr. de chlorhydrate d'adrénaline. L'enfant de cette malade est atteinte d'urticaire très rebelle: Il y a donc deux éléments en présence, l'un rénal net, l'autre asthmatique non moins net. On pouvait se demander quels étaient leurs rapports. L'examen clinique qui n'a jamais montré de râles de congestion au moment des crises d'asthme, les variations de l'albuminurie qui n'ont jamais été en rapport avec l'apparition de ces accès, la non-efficacité lors d'un accès très intense d'une saignée abondante alors que le lendemain l'injection d'adrénaline amenait la sédation de l'accès, faisaient pencher en faveur d'une indépendance des deux syndromes. L'examen des crachats a montré lors des crises les chiffres de :

12 février	0,62 p. 100
27 février	0,73 —
27 mai (pendant l'accès)..............	0,72 —
27 mai (immédiatement après l'accès)....	0,66 —

qui sont en faveur d'un asthme net sans participation cardio-rénale.

Interprétation de ces résultats. — Nous avons vu que, prenant le type bronchitique ou asthmatique comme représentant l'élimination normale des chlorures, il y a chez tout malade atteint d'insuffisance cardiaque ou rénale une rétention sur ce chiffre étalon.

Il importe, en outre, de remarquer que chez les pulmonaires anciens, faisant secondairement une défaillance cardiaque, cette même rétention se réalise.

Nous nous sommes demandé quelles étaient les causes de ces rétentions.

Trois facteurs peuvent jouer leur rôle:

1° La tension artérielle. Nous avons vu qu'elle réduit la chloropection.

2° L'état des glandes sécrétrices bronchiques ou de la membrane dialysante (cellules plates des alvéoles pulmonaires).

3° L'état physique ou chimique du sang, qui fournit le liquide dialysé en vue de la sécrétion (eau, sel).

Il semble que les modifications du sang expliquent mieux nos différentes observations:

Chez un de nos malades (Obs. IX) atteint d'anurie calculeuse, il semble peu probable que le chiffre minime des chlorures (0,40) aussi rapidement constitué puisse être expliqué par des altérations glandulaires.

Chez une autre malade (Obs. XVIII, asthmatique et néphrétique ancienne, la néphrite étant actuellement hors de cause, l'asthme constitue son taux normal de 0,70 pour 100. On peut admettre que le sang subit des variations en rapport avec la néphrite, lui permettant de revenir au type normal; on ne peut imaginer des modifications glandulaires aussi variables.

C'est donc par suite de modifications physico-chimiques du sang, modifications que l'on ne peut préciser, que doit se faire cette rétention sur le type bronchitique normal d'élimination des chlorures.

Nous indiquerons en terminant la technique suivie par nous pour le dosage des chlorures. Dans une capsule de platine on pesait, avec la balance de précision, un poids déterminé de crachats (3 à 4 grammes par opération) ; après addition de 4 à 5 grammes de nitrate de potasse pur et de 0 gr. 50 de carbonate de soude également pur, on évaporait à siccité à l'étuve à 37°.

Les résidus étaient incinérés avec précaution.

On reprenait par l'eau chaude le produit fondu parfaitement blanc et après neutralisation exacte de la liqueur, on y dosait le chlore à l'aide d'une solution décinormale de nitrate d'argent, en présence de chromate neutre de potasse.

Le résultat était exprimé en $NaCl$.

RECHERCHES SUR LE MÉTABOLISME BASAL

DANS LES AFFECTIONS THYROIDIENNES (1)

Depuis que l'étude du métabolisme basal est entrée dans le domaine clinique, c'est principalement aux syndromes thyroïdiens, maladie de Basedow en particulier, qu'elle a été appliquée et les auteurs américains, notamment, ont tiré de sa recherche systématique des conclusions importantes au point de vue du diagnostic, du pronostic et du traitement de ces états d'hyperthyroïdie.

Nous avons apporté dans ce travail le résultat des observations faites par nous depuis deux ans sur des sujets atteints de maladie de Basedow ou d'adénomes toxiques du corps thyroïde. Ces observations confirment dans leurs grandes lignes les résultats des auteurs étrangers. Elles en diffèrent sur quelques points; notamment, il nous semble injustifié d'établir, au point de vue du métabolisme, une séparation radicale entre maladie de Basedow et goitre toxique, comme avait voulu le faire Plummer. Elles confirment la valeur du traitement iodé préparatoire et des opérations thyroïdiennes, d'autant plus efficaces qu'elles réalisent une exérèse plus étendue du tissu glandulaire malade.

Ces observations nous ont en outre permis d'établir la constance d'une modification dans le régime de la ventilation pulmonaire à la suite de ces opérations.

1. *Journ. de Méd. de Lyon*, 5 mars 1929.

PUBLICATIONS DIVERSES

— CHIMIE DES PRINCIPES HYPOGLYCÉMIANTS [1].

***

— ACQUISITIONS MODERNES SUR LA CONSTITUTION CHIMIQUE DES PROTÉINES [2].

***

— LES PROBLÈMES DE LA BIOCHIMIE MODERNE.

Editeurs : Doin et Cie (sous presse).

TABLE DES MATIÈRES

I. — *Biochimie statique. La forme des molécules biochimiques :*

1° Constitution de l'atome et son importance biologique....
2° Les molécules, les stéréoisomères ....
3° Renseignements fournis par les spectres de rayons ultra-violets ....
4° La constitution des protéines ....
5° La constitution des glucides ....

1. *Journal de Méd. de Lyon*, 5 septembre 1927, p. 427.
2. *Ibid.*, 5 août 1928, p. 443.

6° La constitution des stérols ....
7° La constitution des nucléo-protéides ....

II. — *Biochimie cinétique. Les agents biochimiques :*

1° Les réactions en milieu homogène ....
2° Les réactions en milieu hétérogène ....
3° Etude de la tension superficielle......................
4° Le rôle de la réaction du milieu. Notion de PH ....
5° Les membranes agents chimiques ....
6° Le mécanisme de la synthèse chlorophyllienne ....
7° Les infiniment petits ....
8° La constitution des diastases ....
9° Oxydation. Réduction ....

III. — *Biochimie physiologique :*

1° Le catabolisme des hydrates de carbone................
2° Origine des éléments de la bile......................
3° Les combinaisons hydro-carbonées de l'acétone..........

Conclusion ....

Appendice. Résumé de Thermodynamique.......................

TABLE DES MATIÈRES

Enumération chronologique des travaux 3

Travaux concernant les protides 7

Travaux concernant les hydrates de carbone.................. 37

Travaux de chimie pathologique 51

Publications diverses 69